



FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Artigo de Investigação Médico Dentário
Mestrado Integrado em Medicina Dentária

**AVALIAÇÃO DO FLUIDO CREVICULAR GENGIVAL COMO MÉTODO
DE DIAGNÓSTICO DE PERTURBAÇÕES DO COMPORTAMENTO
ALIMENTAR: ANOREXIA NERVOSA E BULIMIA NERVOSA –
VALIDAÇÃO CLÍNICA DA TÉCNICA DE ESPECTROMETRIA DE
INFRAVERMELHOS PELA TRANSFORMADA DE FOURIER**

Joana Patrícia Miranda Ferreira

Porto, 2017



FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Artigo de Investigação Médico Dentário
Mestrado Integrado em Medicina Dentária

**AVALIAÇÃO DO FLUIDO CREVICULAR GENGIVAL COMO MÉTODO
DE DIAGNÓSTICO DE PERTURBAÇÕES DO COMPORTAMENTO
ALIMENTAR: ANOREXIA NERVOSA E BULIMIA NERVOSA –
VALIDAÇÃO CLÍNICA DA TÉCNICA DE ESPECTROMETRIA DE
INFRAVERMELHOS PELA TRANSFORMADA DE FOURIER**

Investigador principal:

Nome completo: Joana Patrícia Miranda Ferreira

Nº de estudante: 201402414

Contacto telefónico: 910136801

Correio eletrónico: joanapmirandaf@gmail.com

Orientador:

Nome completo: Pedro de Sousa Gomes

Grau académico: Doutoramento

Título profissional: Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Dentária, da U. Porto (FMDUP)

Coorientador:

Nome completo: Isabel Maria Boavista Vieira Marques Brandão

Grau académico: Doutoramento

Título profissional: Médica Psiquiátrica no Serviço de Psiquiatria do Centro Hospitalar do São João no Porto (CHSJP); Professora Auxiliar Convidada da Faculdade de Medicina, U. Porto (FMUP)

Porto, 2017

Agradecimentos

Esta monografia de investigação representa o culminar de uma importante etapa da minha vida que, como qualquer projeto, conjuga todos aqueles que contribuíram para a sua concretização.

O meu primeiro reconhecimento é, claramente, dirigido ao Professor Doutor Pedro de Sousa Gomes, pela sua incansável orientação científica, disponibilidade, acessibilidade e total confiança e apoio demonstrados relativamente ao presente projeto. Tal como salientado por Fernando Pessoa: *“Não é o trabalho, mas o saber trabalhar, que é o segredo do êxito no trabalho. Saber trabalhar quer dizer: não fazer um esforço inútil, persistir no esforço até ao fim e saber reconstruir uma orientação quando se verificou que ele era, ou se tornou, errada.”*. Manifesto-lhe o meu total reconhecimento pela pessoa e pelo profissional que é.

À Doutora Professora Isabel Marques Brandão e a toda a equipa do Serviço de Psiquiatria e Saúde Mental do Centro Hospital do São João no Porto, pela disponibilidade e auxílio demonstrados durante a seleção dos doentes integrantes deste estudo.

Ao Dr. Ricardo pela sua disponibilidade, apoio e, sobretudo, pelo seu contínuo esforço para levar este trabalho “a bom porto”.

A todos os participantes deste estudo, o meu enorme obrigada! Sem vocês não seria possível!

Aos meus amigos que *“Em perigos e guerras esforçados, Mais do que prometia a força humana”* (Luís de Camões) me encorajaram em todo o percurso académico.

Aos meus pais, comigo em todos os momentos com inigualável ternura, amor, confiança, preocupação e disponibilidade. São a minha vida, o meu pilar!

À “Titi”, ao tio Carlos e ao primo André, pelo carinho, pela preocupação e suporte demonstrados ao longo do meu percurso académico.

Ao meu namorado, João Reis, a minha inspiração diária. Obrigada pelo apoio, pela ajuda, pela compreensão, pela confiança que depositas em mim, pelas críticas e, especialmente, pelo amor incondicional!

À minha “estrelinha”, a minha avó, que certamente continuará a guiar-me pelo caminho certo!

Índice

| | |
|---|------------|
| AGRADECIMENTOS | II |
| ÍNDICE DE FIGURAS | V |
| ÍNDICE DE TABELAS | VI |
| LISTA DE ACRÓNIMOS E ABREVIATURAS..... | VII |
| RESUMO | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| INTRODUÇÃO..... | 3 |
| MATERIAIS E MÉTODOS | 7 |
| AMOSTRA..... | 7 |
| <i>Critérios de inclusão e exclusão</i> | <i>8</i> |
| AVALIAÇÃO DOS PARTICIPANTES | 9 |
| PROTOCOLO ADOTADO | 10 |
| <i>Cuidados a ter antes da recolha do fluido crevicular gengival.....</i> | <i>10</i> |
| <i>Preparação do participante antes da recolha do fluido crevicular gengival.....</i> | <i>10</i> |
| <i>Recolha do fluido crevicular gengival.....</i> | <i>11</i> |
| <i>Acondicionamento das tiras coletoras com o fluido crevicular gengival.....</i> | <i>11</i> |
| <i>Análise do fluido crevicular gengival</i> | <i>11</i> |
| CONSIDERAÇÕES ÉTICAS | 12 |
| RESULTADOS | 13 |
| CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA..... | 13 |
| ANÁLISE DO FLUIDO CREVICULAR GENGIVAL PELA ESPECTOMETRIA DE FTIR..... | 14 |
| DISCUSSÃO..... | 18 |
| CONCLUSÃO | 21 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 22 |
| ANEXOS..... | 25 |
| ANEXO I – AUTORIZAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE DO CENTRO HOSPITALAR SÃO JOÃO, PORTO | 26 |
| ANEXO II – AUTORIZAÇÃO DO DIRETOR DO SERVIÇO DE PSIQUIATRIA E SAÚDE MENTAL DO CENTRO HOSPITALAR SÃO JOÃO, PORTO | 31 |

| | |
|---|----|
| ANEXO III – EXPLICAÇÃO DO ESTUDO | 33 |
| ANEXO IV – DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO INFORMADO, ESCLARECIDO E LIVRE | 38 |
| ANEXO V – <i>EATING DISORDER EXAMINATION QUESTIONNAIRE (EDE-Q)</i> | 40 |
| ANEXO VI – ANAMNESE CLÍNICA DA PARTICIPANTE | 46 |
| ANEXO VII – REGISTO DO EXAME CLÍNICO DA PARTICIPANTE | 52 |
| ANEXO VIII – DECLARAÇÃO DE AUTORIA..... | 57 |
| ANEXO IX – PARECER DO ORIENTADOR | 59 |

Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Equipamento de espectrometria de FTIR: PerkinElmer Spectrum BX FTIR System®. | 11 |
| Figura 2 – Ilustração gráfica dos espectros infravermelhos de FCG do grupo CT, em toda a região do infravermelho médio ($4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$). | 14 |
| Figura 3 – Ilustração gráfica dos espectros infravermelhos de FCG do grupo DA, em toda a região do infravermelho médio ($4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$). | 14 |
| Figura 4 – Ilustração gráfica dos espectros infravermelhos de FCG do grupo CT (preto) em confronto com os do grupo DA (vermelho), sem pré-processamento. | 15 |
| Figura 5 – Ilustração gráfica da aplicação da primeira derivada aos espectros infravermelhos de FCG do grupo CT (preto) e do grupo DA (vermelho). | 15 |
| Figura 6 – Ilustração gráfica dos espectros infravermelhos de FCG dos subgrupos ANR, ANP, BNNP e BNP, em toda a região do infravermelho médio ($4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$) e sem pré-processamento. | 16 |
| Figura 7 – Ilustração gráfica da aplicação da primeira derivada aos espectros infravermelhos de FCG dos subgrupos ANR (vermelho), ANP (azul), BNNP (verde) e BNP (preto). | 16 |

Índice de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela I – Manifestações orais detetadas em doentes com AN e BN, consoante a presença ou ausência de hábitos purgativos. (Adaptado: Lo Russo L. et al. (6)) | 4 |
| Tabela II – Amostra do estudo; Grupo DA: Grupo de estudo (DA): com PCA; Grupo (CT): sem PCA..... | 7 |
| Tabela III – Grupo de estudo e respetivos subgrupos. | 7 |
| Tabela IV – Critérios de inclusão e exclusão do grupo DA. | 8 |
| Tabela V – Critérios de inclusão e exclusão do grupo CT..... | 9 |
| Tabela VI – Caracterização dos grupos principais: CT e DA..... | 13 |

Lista de Acrónimos e Abreviaturas

AN – Anorexia Nervosa

BN – Bulimia Nervosa

CES – Comissão de Ética para a Saúde

CHSJP – Centro Hospitalar do São João do Porto

CHSJP-CAA – Consulta de Comportamento Alimentar do Centro Hospitalar do São João no Porto

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DP – Disto-Palatino

DV – Disto-Vestibular

EDE-Q – Eating Disorder Examination Questionnaire

FCG – Fluido Crevicular Gengival

FFUP – Faculdade de Farmácia, U. Porto

FMDUP – Faculdade de Medicina Dentária, U. Porto

FMUP – Faculdade de Medicina, U. Porto

FTIR – Espectrometria de Infravermelhos pela Transformada de Fourier

IMC – Índice de Massa Corporal

MP – Mesio-Palatino

MV – Mesio-Vestibular

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCA – Perturbações do Comportamento Alimentar

Resumo

Introdução: A anorexia nervosa e a bulimia nervosa são doenças psiquiátricas em que se verificam comportamentos de restrição alimentar. No decorrer destas psicopatologias, o microambiente oral sofre modificações bruscas. Por conseguinte, é expectável que o fluido crevicular gengival proveniente de doentes com distúrbios alimentares exiba uma composição diferente quando comparado com indivíduos saudáveis.

Objetivos: O presente projeto experimental pretende identificar eventuais divergências ao nível da constituição do fluido crevicular gengival de doentes com distúrbios alimentares, através de uma técnica laboratorial não invasiva e simples: a espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier.

Metodologia: A amostra do estudo foi constituída por 24 indivíduos, exclusivamente do sexo feminino, distribuídos em dois grupos principais. O grupo de estudo envolveu 10 doentes com anorexia nervosa e 4 doentes com bulimia nervosa. Por sua vez, o grupo controlo incluiu 10 voluntárias sem história passada e/ou presente de anorexia nervosa ou bulimia nervosa, verificada pelo *Eating Disorder Examination Questionnaire*. Cada participante foi submetido a um inquérito clínico, bem como a um exame clínico intraoral e extraoral. De seguida, procedeu-se à recolha de fluido crevicular gengival, com o auxílio de tiras de papel absorvente, em quatro locais específicos do sulco gengival do dente 16. Posteriormente, as amostras adquiridas foram analisadas segundo a técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier.

Resultados: Os resultados obtidos tendem a demonstrar a existência de diferenças na composição do fluido crevicular gengival do grupo de estudo relativamente ao grupo controlo. Em contrapartida, não se observaram diferenças consideráveis entre os subtipos dos distúrbios alimentares em análise.

Conclusão: Este estudo demonstrou que a análise de fluido crevicular gengival pela espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier poderá contribuir para o diagnóstico clínico de distúrbios alimentares. Futuramente, serão necessários estudos adicionais para a validação clínica da técnica mencionada.

Palavras-chave: “Anorexia Nervosa”; “Bulimia Nervosa”; “Distúrbios Alimentares”; “Fluido Crevicular Gengival”; “Espectrometria de Infravermelhos pela Transformada de Fourier”.

Abstract

Introduction: Anorexia nervosa and bulimia nervosa are psychiatric diseases characterized by restrictive eating behaviors. During the progression of these psychopathologies, the oral microenvironment undergoes abrupt modifications. Therefore, it is assumed that the gingival crevicular fluid from patients with eating disorders exhibits a different composition when compared to healthy patients.

Objectives: The aim of this investigation was to identify differences in the composition of the gingival crevicular fluid from patients with eating disorders, through a simple and noninvasive laboratory technique: fourier transform infrared spectroscopy.

Methodology: The study sample included 24 females distributed into two major groups. The study group that involved 10 patients with anorexia nervosa and 4 patients with bulimia nervosa and the control group that included 10 volunteers without past and/or present diagnosis of anorexia nervosa or bulimia nervosa, as verified by the Eating Disorder Examination Questionnaire. A clinical survey was performed to each participant, as well as an intraoral and extraoral clinical examination. Then, the gingival crevicular fluid was collected using absorbent paper strips on four specific sites from the gingival sulcus of tooth 16. Afterwards, the gingival crevicular fluid's samples were analyzed using fourier transform infrared spectroscopy.

Results: Results from this study suggest differences in the composition of gingival crevicular fluid of the study group. However, no relevant differences were observed between subtypes of eating disorders.

Conclusion: This study demonstrated that the analysis of gingival crevicular fluid by fourier transform infrared spectroscopy is useful for the diagnosis of eating disorders. In the future, additional studies will be needed for a clinical validation of this technique.

Key-words: “Anorexia nervosa”; “Bulimia Nervosa”; “Eating Disorders”; “Gingival Crevicular Fluid”; “Fourier Transform Infrared Spectroscopy”.

Introdução

As perturbações do comportamento alimentar (PCA), nomeadamente, a anorexia nervosa (AN) e a bulimia nervosa (BN), são entidades nosológicas psiquiátricas descritas como modificações persistentes do comportamento alimentar, que prejudicam a saúde física, bem como a atividade psicossocial do indivíduo, aumentando a sua morbilidade e mortalidade.(1-3)

A AN caracteriza-se pela acentuada e patológica perda de peso induzida e preservada pelo próprio doente através de uma rígida restrição alimentar (1-3), observando-se, desta forma, um índice de massa corporal (IMC; quociente entre o peso, em quilogramas, e o quadrado da altura, em metros) menor que $18,5 \text{ Kg/m}^2$.(2) Subdivide-se em AN restritiva, cuja perda de peso se relaciona com períodos de jejum prolongados, associados ou não a atividade física intensa; ou AN purgativa, na qual o doente adquire hábitos purgativos, especialmente a indução do vômito e a utilização de laxantes ou diuréticos.(2)

A BN é descrita por episódios de compulsão alimentar (*Binge Eating*), isto é, um exagerado e fugaz consumo de alimentos durante um pequeno intervalo de tempo, consecutivos de comportamentos compensatórios incorretos que visam eliminar o excesso de calorias ingeridas desequilibradamente.(1, 2, 4) De acordo com o hábito compensatório adotado, subdivide-se em BN purgativa, quando há indução de vômito ou utilização de laxantes e diuréticos; e BN não purgativa caracterizada pelo jejum prolongado ou exercício físico excessivo. Os doentes bulímicos possuem um IMC superior a $18,5 \text{ Kg/m}^2$.(1, 2)

As PCA afetam, principalmente, adolescentes e jovens adultos do sexo feminino.(1, 3) Segundo um estudo epidemiológico nacional de Machado P. et al (2006) (5), a prevalência de AN foi de 0,39% entre mulheres jovens portuguesas, enquanto que a BN afetava 0,30% dessa população.

No decorrer destas psicopatologias, várias manifestações orais podem ser detetadas, incluindo inúmeros sinais e sintomas que envolvem as estruturas dentárias, os tecidos periodontais, a mucosa oral, as glândulas salivares e as estruturas periorais (Tabela I). Muitas vezes estas sequelas a nível da cavidade oral surgem no início da doença, permitindo o diagnóstico precoce de PCA.(6)

Tabela I – Manifestações orais detetadas em doentes com AN e BN, consoante a presença ou ausência de hábitos purgativos. (Adaptado: *Lo Russo L. et al. (6)*)

| Manifestações orais | | Sem hábitos purgativos | Com hábitos purgativos |
|-------------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------------|
| Estruturas dentárias | Cárie dentária | + | + |
| | Erosão dentária | + | + |
| Periodonto | Gengivite | + | + |
| | Periodontite | - | + |
| Mucosa oral | Atrofia mucosa oral | + | + |
| | Glossite (eritema e atrofia) | + | + |
| | Lesões eritematosas (palato mole) | - | + |
| Manifestações salivares | Sialoadenite | + | + |
| | Hipossalivação | ± | ± |
| | Sialometaplasia necrosante | + | + |
| Sintomas orais | Ardência cavidade oral | + | + |
| | Glossodinia | + | + |
| | Xerostomia | + | + |
| | Disgeusia | ± | ± |
| | Hipersensibilidade dentária | - | + |
| | Episódios de dor cavidade oral | + | + |

O fluido crevicular gengival (FCG) pode também ser uma substância acometida pela presença de AN e BN. Durante o último século, o FCG foi reconhecido como uma relevante fonte de biomarcadores para doenças orais e sistémicas.(7) O seu potencial de diagnóstico, bem como a sua natureza dinâmica, foram consolidados quando *Brill & Krasse* (1950) (8-10) descobriram que as fitas de papel absorvente inseridas no sulco gengival de modelos experimentais animais, permitiam a recolha de um corante de fluoresceína previamente injetado na circulação sistémica dos mesmos.

O FCG é constituído por uma mistura complexa de substâncias derivadas a partir do soro, células estruturais do periodonto, células inflamatórias do hospedeiro e bactérias orais.(11, 12) Após sucessivos anos de esforço, mais de 65 componentes biologicamente ativos foram detetados na composição deste fluido.(12, 13) Sabe-se que emerge pelo plexo gengival dos vasos sanguíneos do *corium* gengival, percorrendo a membrana basal externa e o epitélio juncional até alcançar o sulco gengival.(7, 9-11) Embora diversos métodos de colheita de FCG tenham sido descritos, o mais frequentemente utilizado consiste na introdução de uma fita de papel absorvente no sulco

gingival. Esta técnica de colheita simples e, sobretudo, não invasiva, também contribuiu para o seu reconhecimento como uma promissora ferramenta de diagnóstico.(7, 10)

A análise de FCG através de métodos bioquímicos clássicos é restrita, uma vez que o volume de amostra alcançável é reduzido.(7) Todavia, com o advento da tecnologia de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier (FTIR) esta limitação foi superada, dado que a última possibilita a utilização de pequenos volumes de amostra tanto de FCG como de outros fluídos biológicos.(7, 12, 14)

A espectrometria de FTIR é uma técnica que permite a detecção de pequenas e precoces alterações bioquímicas relacionadas com condições patológicas.(15) Resumidamente, quando uma célula, tecido ou fluido biológico é percorrido por um feixe de radiação infravermelha ocorre uma interação entre o último e as ligações químicas da amostra biológica, nomeadamente C-H, N-H, O-H e S-H. O resultado dessa interação produz um espectro constituído por bandas ou picos, que representam as vibrações das ligações químicas. A posição dos picos é específica para interações particulares com as ligações químicas proporcionando informação precisa relacionada com a composição bioquímica da substância.(16, 17) Consequentemente, a probabilidade de duas amostras biológicas apresentarem o mesmo espectro infravermelho é deveras reduzida, por isso, este é considerado a “impressão digital” molecular da amostra biológica. Caso a última seja alterada devido a uma entidade nosológica o espectro infravermelho sofre modificações, sendo utilizado para detetar e monitorizar o processo da doença.(13, 18)

Ao contrário de análises bioquímicas convencionais, a espectrometria de FTIR faculta informação quantitativa e qualitativa sobre a natureza das ligações químicas e estrutura molecular de fluidos biológicos, o que permite a definição de biomarcadores de diagnóstico de doença.(15, 19, 20) O referido método caracteriza-se por ser não invasivo, multiparamétrico e livre de reagentes, sendo simples de aplicar, dado que o seu processo de mensuração é amplamente automatizado e exige o mínimo de formação para os operadores.(12, 14, 20, 21) Adicionalmente, é uma técnica precisa, evidenciando minuciosas alterações, mesmo em bandas de absorção fraca, devido à vantagem de armazenamento dos dados em formatos codificados digitalmente.(12, 20)

Inúmeras patologias sistémicas têm sido detetadas aplicando a espectrometria de FTIR em amostras de soro e de plasma.(14, 15) A artrite reumatoide (14, 15, 22), a doença de Alzheimer (14, 15, 21), a doença cardíaca (14, 15, 23), a hiperlipidemia (14, 15, 24), a leucemia (14) e o cancro da bexiga e do ovário (14) são alguns exemplos destas patologias. Outros fluidos biológicos podem ser analisados através desta técnica, como o fluido amniótico para determinar a maturidade

pulmonar fetal (14, 15, 25) e a saliva para identificação de diabetes *mellitus* (14, 15, 21), psoríase (15) e abuso de drogas (14).

Relativamente ao FCG, a sua análise pela espectrometria de FTIR permitiu o diagnóstico de diabetes *mellitus* (26) e de doença periodontal (13, 18, 20, 26). Porém, até ao momento, não há evidências sobre o desempenho desta ferramenta no diagnóstico de AN e BN. Assim sendo, o objetivo fulcral desta investigação reside em identificar eventuais divergências no perfil bioquímico do FCG de doentes com PCA quando confrontado com indivíduos saudáveis, através de uma técnica laboratorial não invasiva e simples, a espectrometria de FTIR, que coadjuve no diagnóstico prematuro das patologias mencionadas. Adicionalmente, pretende-se procurar diferenças na composição do FCG dos vários subtipos de PCA.

Materiais e métodos

Amostra

O presente projeto de investigação envolveu indivíduos do Serviço de Psiquiatria e Saúde Mental do CHSJP.

A amostra do estudo foi constituída por 24 indivíduos (n=24) distribuídos em dois grupos principais: o grupo de estudo que compreende doentes com história clínica presente de AN ou BN (grupo DA) em confronto com um grupo controlo que alberga indivíduos sem história clínica passada e/ou presente de AN ou BN (grupo CT) (Tabela II).

Tabela II – Amostra do estudo; Grupo DA: Grupo de estudo (DA): com PCA; Grupo (CT): sem PCA.

| | | |
|------------------------------------|-----------------|---|
| Amostra de estudo (n=24) | Grupo DA | 14 doentes com história clínica presente de AN ou BN (n=14) |
| | Grupo CT | 10 indivíduos sem história clínica passada e/ou presente de AN ou BN (n=10) |

O grupo DA foi, por sua vez, compartimentado em quatro subgrupos, consoante o tipo de PCA presente (Tabela III).

Tabela III – Grupo de estudo e respetivos subgrupos.

| GRUPO DE ESTUDO | SUBGRUPOS |
|---|--|
| DA: Com 14 doentes com história clínica presente de PCA (n=14) | ANR: Com 8 doentes com Anorexia Nervosa Tipo Restritivo (n=8) |
| | ANP: Com 2 doentes com Anorexia Nervosa Tipo Purgativo (n=2) |
| | BNNP: Com 1 doente com Bulimia Nervosa Tipo Não Purgativo (n=1) |
| | BNP: Com 3 doentes com Bulimia Nervosa Tipo Purgativo (n=3) |

Os dados deste trabalho empírico foram recolhidos durante o período de 6 de fevereiro de 2017 a 18 de abril de 2017.

Critérios de inclusão e exclusão

O grupo DA obedeceu aos critérios de inclusão e exclusão apresentados na seguinte tabela (Tabela IV).

Tabela IV – Critérios de inclusão e exclusão do grupo DA.

| Critérios de seleção | Critérios de exclusão |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Sexo feminino;• Idade entre os 15 e 51;• História clínica presente de AN ou BN;• Com sinais e sintomas agudos de AN ou BN;• Assídua Consulta de Comportamento Alimentar do Centro Hospitalar do São João no Porto (CHSJP-CCA);• Autonomia legal para entender as particularidades da investigação e assinar o consentimento informado;• Dente 16 presente, sem cárie e sem doença periodontal. | <ul style="list-style-type: none">• Sexo masculino;• Idade superior a 51 anos;• Com AN ou BN controlada;• Com diagnóstico de outras PCA;• Presença de outras patologias sistémicas (além de AN ou BN);• Hábitos tabágicos;• Hábitos alcoólicos;• Consumo de substância ilícitas;• Sem autonomia legal para entender as particularidades da investigação e assinar o consentimento informado.• Ausência dente 16;• Dente 16 com cárie e/ou doença periodontal;• Aparelho ortodôntico. |

Por outro lado, o grupo CT foi condicionado pelos critérios de inclusão e exclusão a seguir esquematizados (Tabela V).

Tabela V – Critérios de inclusão e exclusão do grupo CT.

| Critérios de seleção | Critérios de exclusão |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Sexo feminino; • Idade compreendida entre 18 e 35 anos; • Autonomia legal para entender as particularidades da investigação e assinar o consentimento informado; • Dente 16 presente, sem cárie e sem doença periodontal. | <ul style="list-style-type: none"> • Sexo masculino; • Idade superior a 35 anos; • História passada e/ ou presente de AN ou BN; • Risco de sofrer de PCA; • Hábitos tabágicos; • Hábitos alcoólicos; • Consumo de substâncias ilícitas; • Presença de outras patologias sistêmicas; • Sujeita a medicação crônica (com exceção de contraceptivo oral); • Sem autonomia legal para entender as particularidades da investigação e assinar o consentimento informado. • Ausência dente 16; • 16 com cárie e/ou doença periodontal; • Aparelho ortodôntico. |

Avaliação dos participantes

Cada indivíduo convidado a participar no estudo, após a leitura do documento de explicação do estudo (Anexo III), assinou a declaração de consentimento informado, esclarecido e livre (Anexo IV). Posteriormente, os participantes preencheram um inquérito clínico (Anexo VI), sendo que as questões 3, 4 e 5.1 se destinavam exclusivamente aos doentes do grupo DA. Adicionalmente, os indivíduos do grupo CT foram submetidos a um questionário: *Eating Disorder Examination Questionnaire (EDE-Q)* (Anexo V), para despistar história passada e/ou presente de PCA. A avaliação dos resultados deste questionário não conduziu à exclusão de nenhum participante do grupo em questão.

A amostra de estudo foi ainda sujeita a um exame clínico extraoral e intraoral (Anexo VII), efetuado unicamente pela investigadora principal para evitar a variedade interoperador. A referida avaliação foi sempre executada perante as mesmas condições, recorrendo ao seguinte material:

luvas, máscaras, espelhos intraorais planos, sondas CPI, sondas periodontais de Willians, rolos de algodão, gazes esterilizadas e uma fonte de luz portátil.

O dente escolhido para recolher o FCG foi o primeiro molar permanente superior (dente 16). A deteção de cárie e/ou doença periodontal neste dente constituiu um critério exclusão, dado que qualquer situação patológica de afeção do dente ou estrutura adjacente poderia influenciar os resultados. Sendo assim, a equipa de investigação definiu um procedimento *standard* para a sua avaliação. A análise de cárie dentária incluiu uma inspeção visual e tátil, com a sonda CPI e seguindo as diretrizes da Organização Mundial de Saúde (OMS).(27) Para a deteção de alterações periodontais efetuou-se uma sondagem do sulco gengival do dente 16 nos quatro locais onde, posteriormente, se recolheu FCG: mesio-vestibular (MV), disto-vestibular (DV), mesio-palatino (MP) e disto-palatino (DP). Atribuiu-se o diagnóstico de periodontite nos casos em que se verificaram sulcos com valores de profundidade de sondagem superior a 3 mm ou recessões gengivais clinicamente visíveis.(27) Por outro lado, a presença de gengivite foi constatada nos casos em que se observou inflamação generalizada do tecido gengival e se registou sangramento e dor após a sondagem do sulco gengival.(27)

Protocolo adotado

Todos os indivíduos da amostra foram estudados a partir da execução do protocolo descrito seguidamente.

Cuidados a ter antes da recolha do fluido crevicular gengival

O participante foi instruído para um jejum de sólidos, de pelo menos duas horas antes da aquisição das amostras de FCG.

Preparação do participante antes da recolha do fluido crevicular gengival

(Adaptado Xiang X. et al. (26))

Após averiguar se o convidado respeitou os cuidados ressaltados anteriormente, o mesmo foi solicitado a bochechar com água durante 1 minuto com a finalidade de eliminar os macrodetritos da cavidade oral. Seguidamente expeliu a água, deglutindo duas vezes. A placa supragengival do dente 16 foi removida recorrendo a gazes esterilizadas. Depois, procedeu-se à sondagem do referido dente nos quatro pontos já mencionados, registando os valores obtidos. De

seguida, foi colocado um rolo de algodão por vestibular (isolamento relativo), secando ligeiramente os locais de colheita de FCG, para minimizar o risco de contaminação salivar.

Recolha do fluido crevicular gengival

(Adaptado *Xiang et al.* (26))

A colheita de FCG incluiu a utilização de tiras de papel absorvente: *PerioPaper® GCF Collection Strips*. Inicialmente, introduziu-se a fita coletora no sulco gengival no dente 16 em MV até se sentir uma ligeira resistência. Após 30 segundos, a última foi removida. Repetiu-se o procedimento anterior para os restantes locais de recolha: DV, MP e DP. Assim, obteve-se um total de quatro fitas coletoras com FCG de cada indivíduo.

Acondicionamento das tiras coletoras com o fluido crevicular gengival

As tiras de papel absorvente foram colocadas em tubos *epENDORF* estéreis de 1,5 mL individualmente e imediatamente após a sua remoção da cavidade oral. De seguida, identificou-se cada tubo com o número de registo do participante e o local do sulco gengival correspondente. Os tubos foram armazenados a -80°C até à execução da etapa subsequente.

Análise do fluido crevicular gengival

As tiras coletoras com o FCG foram analisadas pela espectrometria de FTIR. A Faculdade de Farmácia, U. Porto (FFUP), cedeu, gentilmente, o equipamento indispensável para a aplicação desta técnica espectroscópica: o *PerkinElmer Spectrum BX FTIR System®* (Figura 1) (28). Este sistema está associado a um computador, onde os espectros infravermelhos das amostras de FCG foram obtidos pelo software *Spectrum*.



Figura 1 – Equipamento de espectrometria de FTIR:
PerkinElmer Spectrum BX FTIR System®.

Em primeiro lugar, as tiras coletoras já com o FCG foram descongeladas à temperatura ambiente, imediatamente antes da sua análise. De seguida, o cristal do equipamento (local de colocação das amostras) foi limpo com álcool etílico a 96%, sendo que se aguardou alguns segundos para que o último evaporasse. Posteriormente, sobrepos-se uma tira no cristal do equipamento, procedendo-se à aquisição do espectro. Repetiu-se este procedimento para as restantes tiras.

Os espectros finais representam o resultado da interação entre a radiação infravermelha e a amostra. Estes estão compreendidos na região do infravermelho médio, nomeadamente entre 4000 e 500 cm^{-1} . A partir dos espectros é então possível interpretar os grupos de moléculas biológicas presentes. Importa também acrescentar que se aplicou aos espectros finais uma ferramenta quimiométrica, a primeira derivada, através do *MatLab*. Este pré-processamento apresenta como principal finalidade exponenciar pequenas diferenças entre as amostras.

Considerações éticas

Esta investigação foi autorizada pela Comissão de Ética para a Saúde (CES) do CHSJP (Anexo I) e pelo diretor do Serviço de Psiquiatria e Saúde Mental da unidade hospitalar mencionada (Anexo II).

Os participantes foram devidamente informados sobre as características do estudo, nomeadamente dos procedimentos a serem realizados. Os benefícios esperados e os desconfortos possíveis foram também salientados. Adicionalmente, garantiu-se a confidencialidade dos dados obtidos.

Após expostas as particularidades do estudo, o indivíduo convidado a participar no estudo esclareceu quaisquer dúvidas, além de que dispôs do tempo necessário para refletir sobre anuir ou refutar o pedido de participação. Portanto, a sua participação foi voluntária, mediante a assinatura de um consentimento informado, sendo que a qualquer momento detinha a liberdade de renunciá-la.

Resultados

Caracterização da amostra

A amostra de estudo foi constituída por 24 indivíduos.

Tabela VI – Caracterização dos grupos principais: CT e DA.

| | Grupo CT | Grupo DA |
|--|-------------------------|-------------------------|
| Número de indivíduos (%) | 41,67% | 58,33% |
| Número de indivíduos sexo masculino (%) | 0 | 0 |
| Número de indivíduos sexo feminino (%) | 100% | 100% |
| Idade média | 22,90 anos | 26,29 anos |
| Idade mínima | 22 anos | 16 anos |
| Idade máxima | 23 anos | 51 anos |
| Desvio-padrão média idades | 0,88 | 12,38 |
| IMC médio | 21,04 Kg/m ² | 18,60 Kg/m ² |
| IMC mínimo | 18,55 Kg/m ² | 27,39 Kg/m ² |
| IMC máximo | 25,65 Kg/m ² | 14,20 Kg/m ² |
| Desvio-padrão IMC médio | 2,32 | 4,27 |

O grupo CT representa 41,67% da amostra de estudo, enquanto que o grupo DA constitui 58,33% da mesma. Ambos os grupos são compostos, exclusivamente, por indivíduos do sexo feminino. A média de idades do grupo CT foi de $22,90 \pm 0,88$ anos, com idades compreendidas entre os 22 e 23 anos. Por sua vez, a média de idades do grupo DA foi de $26,29 \pm 12,38$ anos, com idades compreendidas entre 16 e 51 anos. O IMC médio do grupo CT correspondeu a $21,04 \pm 2,32$ Kg/m², variando entre 18,55 e 25,65 Kg/m², ao passo que no grupo DA o IMC médio foi de $18,60 \pm 4,27$ Kg/m², variando entre 27,39 e 14,20 Kg/m².

Das 14 participantes do grupo DA, 57,14% pertenciam ao subgrupo ANR, 14,29% ao subgrupo ANP, 21,42% ao subgrupo BNNP e, por fim, 7,14% constituíam o subgrupo BNP.

Análise do Fluido Crevicular Gengival pela Espectrometria de FTIR

Os espectros infravermelhos de FCG obtidos pela aplicação da técnica espectrometria de FTIR são apresentados nos gráficos seguintes.

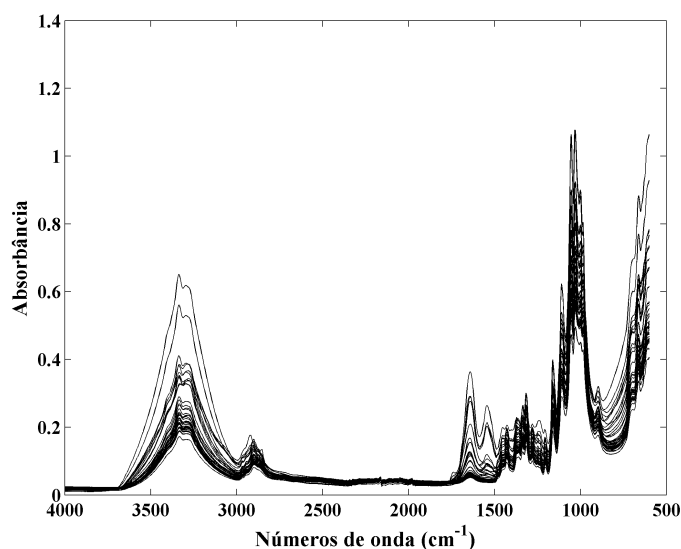


Figura 2 – Ilustração gráfica dos espectros infravermelhos de FCG do grupo CT, em toda a região do infravermelho médio (4000-500 cm^{-1}).

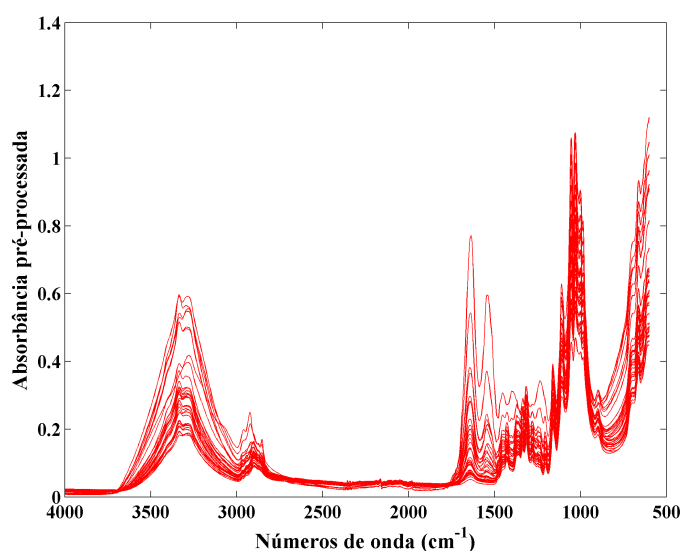


Figura 3 – Ilustração gráfica dos espectros infravermelhos de FCG do grupo DA, em toda a região do infravermelho médio (4000-500 cm^{-1}).

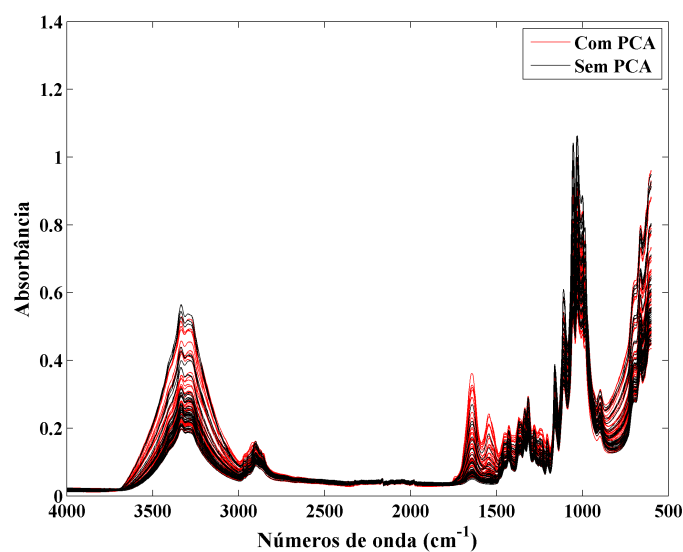


Figura 4 – Ilustração gráfica dos espectros infravermelhos de FCG do grupo CT (preto) em confronto com os do grupo DA (vermelho), sem pré-processamento.

Confrontando os espectros infravermelhos de FCG do grupo CT com os do grupo DA sem qualquer pré-processamento (gráfico 3), verifica-se que é difícil denotar alguma diferença.

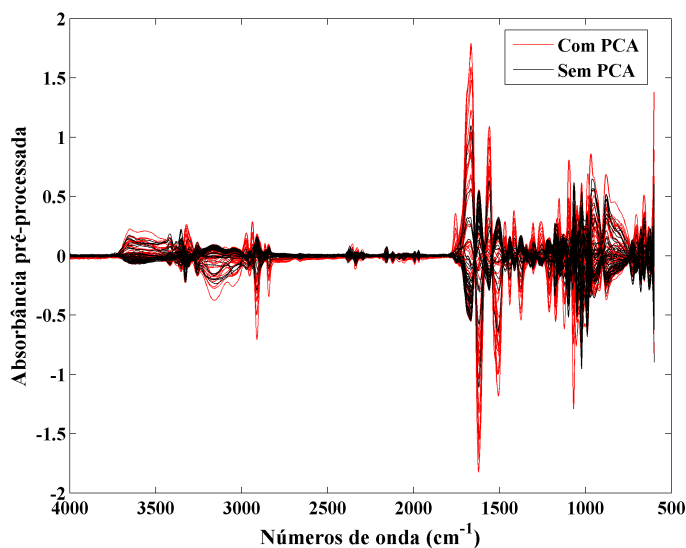


Figura 5 – Ilustração gráfica da aplicação da primeira derivada aos espectros infravermelhos de FCG do grupo CT (preto) e do grupo DA (vermelho).

O gráfico 4, resultante da aplicação da primeira derivada aos espectros infravermelhos de FCG do grupo CT em confronto com os do grupo DA, permite distinguir regiões do infravermelho médio onde são evidentes diferenças: entre os 1800 e 1500 cm^{-1} e entre os 1200 e 1000 cm^{-1} . A

zona compreendida entre 1800 e 1500 cm^{-1} pode estar relacionada com a presença de proteínas (29). Por sua vez, a região entre os 1200 e 1000 cm^{-1} pode interligar-se com a presença de hidratos de carbono (29).

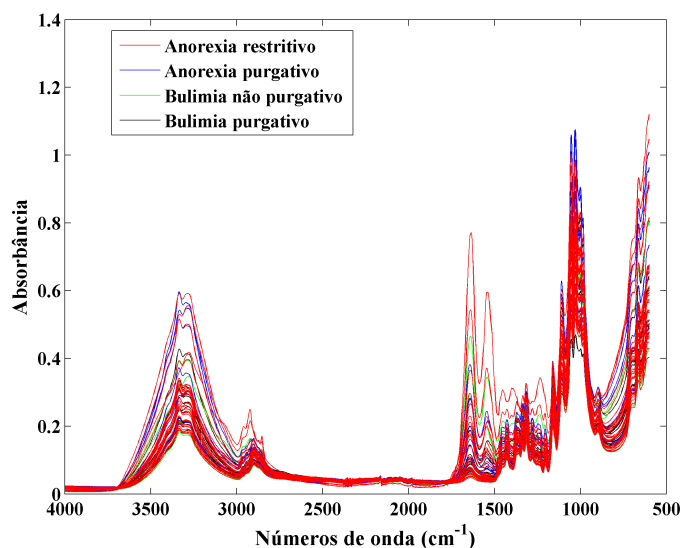


Figura 6 – Ilustração gráfica dos espectros infravermelhos de FCG dos subgrupos ANR, ANP, BNNP e BNP, em toda a região do infravermelho médio (4000-500 cm^{-1}) e sem pré-processamento.

Equiparando os espectros infravermelhos de FCG dos subgrupos ANR, ANP, BNNP e BNP sem qualquer pré-processamento (gráfico 5), verifica-se que é difícil apontar diferenças.

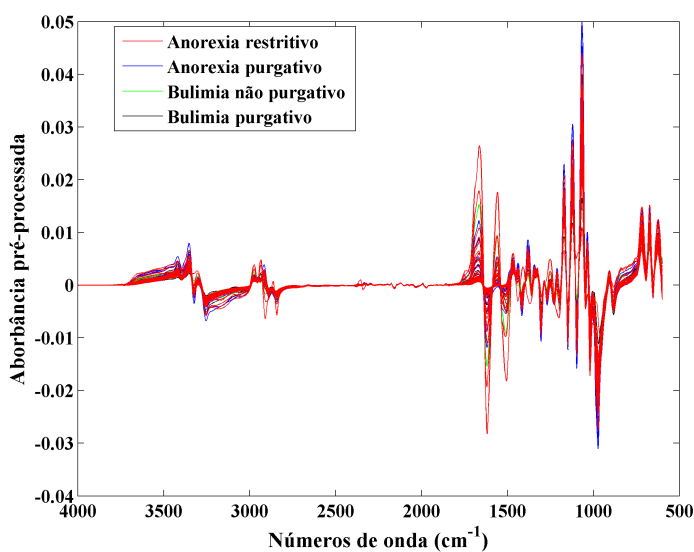


Figura 7 – Ilustração gráfica da aplicação da primeira derivada aos espectros infravermelhos de FCG dos subgrupos ANR (vermelho), ANP (azul), BNNP (verde) e BNP (preto).

Através da aplicação da primeira derivada aos subgrupos ANR, ANP, BNNP e BNP não foi possível identificar diferenças consideráveis entre os mesmos.

Discussão

Desde 1990, numerosos artigos científicos têm sido publicados vinculando as PCA com a saúde oral. De facto, múltiplas manifestações orais são observadas ao longo da progressão destas psicopatologias, sendo a identificação prematura de tais alterações crucial para o diagnóstico precoce.(6, 30-32) Isto é de particular relevância, dado que os pacientes com PCA ocultam a sua má relação com os alimentos e são relutantes em procurar assistência médica especializada.(30) Neste contexto, o Médico Dentista é, frequentemente, o primeiro profissional de saúde contactado pelo doente devido a desconfortos orais incipientes, como por exemplo a dor. A cárie dentária, a erosão dentária, a doença periodontal (em particular a periodontite), a hipossalivação, a xerostomia e a atrofia da mucosa oral são exemplos de sequelas orais previamente identificadas pela literatura científica.(6, 30-32) Ainda assim, alterações bioquímicas ao nível da composição do FCG não estão determinadas. Contudo, tendo em consideração a panóplia de modificações vivenciadas pela cavidade oral no decorrer de um distúrbio alimentar nervoso é expectável que este fluido biológico seja uma estrutura igualmente acometida.

A espectrometria de FTIR de FCG foi reconhecida, até ao momento, como um método coadjuvante para o diagnóstico clínico de doença periodontal (13, 18, 20, 26), assim como de diabetes *mellitus* (26). No que concerne à análise de FCG pela referida técnica espectroscópica como ferramenta auxiliar de diagnóstico de PCA, especialmente de AN e de BN, ainda não foram reveladas quaisquer investigações. Desta forma, é de especial importância ressaltar os resultados e conclusões obtidas a partir da análise de FCG pela espectrometria de FTIR nas patologias já estudadas.

Xiang X. et al. (2010) (12) avaliaram uma amostra de 30 doentes (14 mulheres e 16 homens, $54,4 \pm 16,6$ anos), com periodontite crónica de moderada a severa, utilizando a espectroscopia de FTIR para identificar alterações moleculares específicas da doença no perfil bioquímico do FCG. Para tal, procederam à recolha do fluido corporal mencionado em 190 locais: 64 pontos com periodontite, 61 locais com gengivite e 65 sítios saudáveis (estes últimos pertencentes a indivíduos portadores da doença, assumidos como grupo controlo). Os resultados obtidos sugeriram que o perfil bioquímico do FCG dos locais periodontalmente comprometidos é distinto comparativamente com os sítios sãos, particularmente a nível das vibrações das ligações químicas das seguintes moléculas biológicas: proteínas e fosfolípidos de ácido desoxirribonucleico (DNA). Em acréscimo, a precisão diagnóstica para distinção entre os locais saudáveis e periodontalmente acometidos foi de 93,1% para um conjunto de validação. Assim, estes investigadores concluíram

que a espectrometria de FTIR é um elemento chave na identificação de “impressões digitais” moleculares específicas no FCG quando a periodontite crónica está presente, sustentando diagnósticos clínicos previamente estabelecidos.(12) O estudo descrito apresenta duas limitações fulcrais: a sua reduzida amostra de estudo e o estabelecimento de um grupo controlo obtido a partir da recolha de FCG em dentes saudáveis de indivíduos portadores da doença em análise. Tal facto, poderá induzir alterações no FCG recolhido dos dentes saudáveis tendo em conta que o microambiente oral é alterado com a presença de periodontite crónica.

Em 2013, os mesmos autores publicaram um artigo referente a uma investigação cujo o objetivo residia em avaliar, numa amostra de estudo composta por 78 indivíduos, a capacidade da espectrometria de FTIR diferenciar voluntários saudáveis (n=15, sem diabetes *mellitus* ou qualquer manifestação de doença periodontal) de pacientes com diabetes *mellitus* do tipo II (não insulino-dependentes) associada a periodontite crónica de moderada a grave (n=63, 28 homens e 35 mulheres, 53.3 ± 11.8 anos), analisando as “impressões digitais” moleculares incorporadas no FCG. O FCG foi então recolhido em 286 locais, dos quais 62 saudáveis, 115 com gengivite e 109 com periodontite provenientes de doentes com diabetes *mellitus*, assim como de 65 locais saudáveis de indivíduos do grupo controlo. Após a realização da espectrometria de FTIR para a avaliação das amostras recolhidas, os investigadores demonstraram divergências bioquímicas na composição do FCG de doentes com diabetes *mellitus* e periodontite crónica, sobretudo nas vibrações das ligações químicas proteicas, lipídicas e de hidratos carbono. A precisão diagnóstica determinada para a distinção entre locais saudáveis de locais com periodontite em pacientes com diabetes *mellitus* foi de 87,5% para o conjunto de validações. Enquanto que, para a distinção de locais saudáveis dos participantes do grupo controlo de locais saudáveis de doentes com diabetes *mellitus* revelou 86,7% de precisão diagnóstica para o grupo de validação. Desta forma, *Xiang X. et al.* demonstraram que a espectrometria de FTIR é uma técnica viável para determinar um perfil bioquímico de FCG característico de doentes com diabetes *mellitus* tipo II.(26) Ainda assim, é de salientar que este estudo carece de uma descrição pormenorizada do sexo dos participantes do grupo controlo, assim como de uma amostra de estudo mais alargada do mesmo. A consideração de pontos de análise distintos associada a recolha de FCG no mesmo doente poderão induzir uma limitação do estudo, tendo como base que o microambiente oral induz uma semelhança no FCG recolhido em diferentes locais do mesmo doente.

Assim como nos estudos previamente expostos, a presente investigação constatou que o perfil bioquímico do FCG de doentes com PCA é consideravelmente diferente daquele proveniente de indivíduos saudáveis, nomeadamente ao nível das vibrações das ligações químicas das proteínas

e dos hidratos de carbono. Estas alterações podem refletir a escassez nutricional induzida e suportada pelos pacientes portadores de AN e BN aliada a hábitos dietéticos alterados, isto é a tendência a ingerir determinados alimentos, bem como os comportamentos compensatórios adotados. Os três factos referidos anteriormente constituem as principais causas das restantes alterações que a cavidade oral experimenta no decorrer destas psicopatologias (6, 30-32), sendo assim de esperar que sejam também os responsáveis pelas alterações bioquímicas encontradas no FCG descobertas neste estudo. Importa acrescentar que não foram destacadas divergências relevantes nas demonstrações espectrométricas dos diferentes subgrupos dos distúrbios nervosos avaliados. Tal evidência, sugere que a causa das modificações detetadas na “impressão digital” molecular do FCG pela espectrometria de FTIR é independente dos subtipos de AN e BN.

Posto isto, é expectável que este estudo pioneiro seja o ponto de partida para a validação clínica da técnica de espectrometria de FTIR de FCG como meio auxiliar de diagnóstico de distúrbios alimentares nervosos, nomeadamente de AN e BN.

Limitações do estudo

O presente trabalho experimental revelou algumas limitações, particularmente associadas com a seleção da amostra de estudo e com a análise estatística.

A primeira limitação relaciona-se com a amostra de estudo limitada, havendo necessidade de estudos adicionais com uma amostra mais robusta e mais equilibrada quanto ao sexo (necessário o estudo de homens) de forma a reforçar a reprodutibilidade dos resultados obtidos. Além disso, a carência de uma investigação multicêntrica e com patologias variadas contribuem para esta limitação. Considerando que a prevalência da AN e BN é reduzida (<1%) (33), tornou-se difícil encontrar suficientes voluntários que obedecessem aos critérios de inclusão estipulados.

Concomitante com a primeira limitação apresentada, registam-se deficiências de análise dos resultados obtidos, dado que a avaliação estatística, recorrendo a métodos quimiométricos, ainda não se encontra concluída.

Conclusão

A AN e a BN são distúrbios alimentares nervosos com especial preponderância no mundo clínico, principalmente devido a uma negação dos doentes relativamente à sua condição. Estas psicopatologias causam défices nutricionais determinantes para o surgimento de manifestações orais características. Desta forma, é crucial organizar uma diretriz eficaz no que concerne à identificação e avaliação das particularidades orais evidenciadas em cada caso clínico. Consequentemente, a introdução de novas técnicas, como a espectrometria de FTIR de FCG, torna-se essencial na estruturação de um procedimento de diagnóstico que coadjuve na deteção precoce destes distúrbios alimentares e conduza a uma recuperação imediata, através da terapia mais adequada. Este projeto de investigação demonstrou a capacidade da espectrometria de FTIR de FCG em diferenciar doentes com PCA de indivíduos saudáveis, nomeadamente em duas regiões do infravermelho médio: entre os 1800 e 1500 cm^{-1} , que pode relacionar-se com a presença de proteínas, e entre os 1200 e 1000 cm^{-1} , que pode interligar-se com a presença de hidratos de carbono.

Todavia, a escolha do método de diagnóstico depende da disponibilidade de equipamentos e das medidas para execução do estudo, nomeadamente a sua justificação e dos custos associados.

Futuramente, sugere-se a realização de estudos com coortes maiores, abrangendo uma amostra multicêntrica e com patologias variadas, de forma a serem estabelecidos perfis bioquímicos de FCG característicos de cada doença em estudo, assim como a avaliação da viabilidade clínica da sua execução.

Referências bibliográficas

1. Amoras D, Messias D, Ribeiro R, Turssi C, Serra M. Characterization of eating disorders and their implications in the oral cavity. *Revista de Odontologia da UNESP* 2010;39(4):241-5.
2. Association AP. Feeding and Eating Disorders. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition*. Fifth Edition ed. Arlington, VA: American Psychiatric 2013 p. 339,49,45,46,47.
3. Cordas T. Classification and Diagnosis of Eating Disorders. *Revista de Psiquiatria Clínica*. 2004;31(4):3069-6975.
4. Borges N, Sicchieri J, Ribeiro R, Marchini J, Dos Santos J. Eating disorders - clinical picture. *Medicina, Ribeirão Preto*. 2006;39(3):340-8.
5. Machado PP, Machado BC, Goncalves S, Hoek HW. The prevalence of eating disorders not otherwise specified. *Int J Eat Disord*. 2007;40(3):212-7.
6. Lo Russo L, Campisi G, Di Fede O, Di Liberto C, Panzarella V, Lo Muzio L. Oral manifestations of eating disorders: a critical review. *Oral Dis*. 2008;14(6):479-84.
7. Carneiro LG, Venuleo C, Oppenheim FG, Salih E. Proteome data set of human gingival crevicular fluid from healthy periodontium sites by multidimensional protein separation and mass spectrometry. *J Periodontal Res*. 2012;47(2):248-62.
8. Brill N, Krasse B. The Passage of Tissue Fluid into the Clinically Healthy Gingival Pocket. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2009;16(3):1958.
9. Delima A, Van Dyke T. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000*. 2003;31:55-76.
10. Lamster IB, Ahlo JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1098:216-29.
11. AlRowis R, AlMoharib HS, AlMubarak A, Bhaskardoss J, Preethanath RS, Anil S. Oral fluid-based biomarkers in periodontal disease - part 2. Gingival crevicular fluid. *J Int Oral Health*. 2014;6(5):126-35.
12. Xiang XM, Liu KZ, Man A, Ghiabi E, Cholakakis A, Scott DA. Periodontitis-specific molecular signatures in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res*. 2010;45(3):345-52.
13. Xiang X, Sowa MG, Iacopino AM, Maev RG, Hewko MD, Man A, et al. An update on novel non-invasive approaches for periodontal diagnosis. *J Periodontol*. 2010;81(2):186-98.

14. Mikkonen JJ, Raittila J, Rieppo L, Lappalainen R, Kullaa AM, Myllymaa S. Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Photoacoustic Spectroscopy for Saliva Analysis. *Appl Spectrosc*. 2016;70(9):1502-10.
15. Scott DA, Renaud DE, Krishnasamy S, Meric P, Buduneli N, Cetinkalp S, et al. Diabetes-related molecular signatures in infrared spectra of human saliva. *Diabetol Metab Syndr*. 2010;2:48.
16. Movasaghi Z, Rehman S, Ur Rehman DI. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews* 2008;43(2).
17. Orphanou CM, Walton-Williams L, Mountain H, Cassella J. The detection and discrimination of human body fluids using ATR FT-IR spectroscopy. *Forensic Sci Int*. 2015;252:e10-6.
18. Liu K, Xiang X, Cholakakis A, Sowa M. Diagnosis and Monitoring of Gingivitis in vivo Using Non-Invasive Technology - Infrared Spectroscopy. In: Panagakos F, editor. *Gingival Diseases – Their Aetiology, Prevention and Treatment*: InTech; 2011. p. 121-38.
19. Severcan F, Bozkurt O, Gurbanov R, Gorgulu G. FT-IR spectroscopy in diagnosis of diabetes in rat animal model. *J Biophotonics*. 2010;3(8-9):621-31.
20. Simsek Ozek N, Zeller I, Renaud DE, Gumus P, Nizam N, Severcan F, et al. Differentiation of Chronic and Aggressive Periodontitis by FTIR Spectroscopy. *J Dent Res*. 2016;95(13):1472-8.
21. Peuchant E, Richard-Harston S, Bourdel-Marchasson I, Dartigues JF, Letenneur L, Barberger-Gateau P, et al. Infrared spectroscopy: a reagent-free method to distinguish Alzheimer's disease patients from normal-aging subjects. *Transl Res*. 2008;152(3):103-12.
22. Staib A, Dolenkob B, Finkc DJ, Frühd J. Disease pattern recognition testing for rheumatoid arthritis using infrared spectra of human serum. *Clinica Chimica Acta*. 2001;308(1-2):79-89.
23. Haas SL, Muller R, Fernandes A, Dzeyk-Boycheva K, Wurl S, Hohmann J, et al. Spectroscopic diagnosis of myocardial infarction and heart failure by Fourier transform infrared spectroscopy in serum samples. *Appl Spectrosc*. 2010;64(3):262-7.
24. Sato K, Seimiya M, Kodera Y, Kitamura A, Nomura F. Application of Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy for simple and easy determination of chylomicron-triglyceride and very low density lipoprotein-triglyceride. *Clinica Chimica Acta*. 2010;411(3-4):285-90.
25. Liu KZ, Dembinski TC, Mantsch HH. Rapid determination of fetal lung maturity from infrared spectra of amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;178(2):234-41.
26. Xiang X, Duarte PM, Lima JA, Santos VR, Goncalves TD, Miranda TS, et al. Diabetes-associated periodontitis molecular features in infrared spectra of gingival crevicular fluid. *J Periodontol*. 2013;84(12):1792-800.

27. Petersen P, Baez RJ, Organization. WH. Oral health surveys: basic methods. 5th ed2013.
28. [Available from:
<http://www.labwrench.com/?equipment.view/equipmentNo/7304/PerkinElmer/Spectrum-400-FT-IR--FT-NIR/>.
29. Vaz M, Meirinhos-Soares L, Sousa C, Ramirez M, Melo-Cristino J, Lopes J. Serotypes discrimination of encapsulated *Streptococcus pneumoniae* strains by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Journal of Microbiological Methods*. 2013;93(2):102-7.
30. Frydrych AM, Davies GR, McDermott BM. Eating disorders and oral health: a review of the literature. *Aust Dent J*. 2005;50(1):6-15; quiz 56.
31. Yagi T, Ueda H, Amitani H, Asakawa A, Miyawaki S, Inui A. The role of ghrelin, salivary secretions, and dental care in eating disorders. *Nutrients*. 2012;4(8):967-89.
32. Romanos GE, Javed F, Romanos EB, Williams RC. Oro-facial manifestations in patients with eating disorders. *Appetite*. 2012;59(2):499-504.
33. Hoek HW. Incidence, prevalence and mortality of anorexia nervosa and other eating disorders. *Curr Opin Psychiatry*. 2006;19(4):389-94.

Anexos

**Anexo I – Autorização da Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar
São João, Porto**



Declaração

Para os devidos efeitos se declara que os documentos em anexo, relativos à avaliação e autorização do projecto 'Avaliação do fluído crevicular gengival como método de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar: anorexia nervosa e bulimia nervosa - Validação clínica da técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier' da aluna Joana Patrícia Miranda Ferreira estão conforme os originais.

Porto, 17 de Maio de 2017

O Secretário da Comissão de Ética

Pedro Bast



Parecer da Comissão de Ética para a Saúde do
Centro Hospitalar de São João / Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Título do Projecto: Avaliação do fluido crevicular gengival como método de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar - anorexia nervosa e bulimia nervosa. Validação clínica da técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier.

Nome da Investigadora Principal: mestre em medicina dentária Joana Patrícia Miranda Ferreira

Serviço onde decorre o Estudo: No Serviço de Psiquiatria do CHSJ. Dispõe de autorização do Dr. António Roma Torres, e terá como profissional de ligação a Dra. Isabel Marques Brandão.

Concepção, Pertinência e Objectivos do estudo: Esta investigação visa a validação da análise do fluido crevicular gengival (FCG) pela técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier como ferramenta de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar, nomeadamente anorexia nervosa e bulimia nervosa. Adicionalmente pretende-se comparar o FCG proveniente de pacientes com indução de vômito com aquele recolhido de pacientes sem indução de vômito, visando identificar características discriminatórias entre ambas as situações. Insere-se no âmbito do Mestrado Integrado da FMDUP, sob orientação do Prof. Doutor Pedro de Sousa Gomes, que apresenta declaração nesse sentido. *Não é feita referência ao número de doentes que se prevê vir a recrutar no âmbito deste estudo.*

Benefício/risco: Como benefícios potenciais são referidos os que possam estar associados ao reforço e correção de hábitos de higiene oral. Como incómodo refere-se o que possa estar associado à introdução de uma tira coletora (papel de filtro) no sulco gengival, antecedido de um jejum de 2h para alimentos sólidos.

Confidencialidade dos dados: Está prevista a realização de questionários anonimizados, dos quais se anexam as respetivas cópias. Está previsto acesso a dados clínicos dos doentes através do elo de ligação.

Respeito pela liberdade e autonomia do sujeito de ensaio: Está prevista a obtenção do consentimento informado que é acompanhada de uma folha de informação para os participantes esclarecedora sobre a natureza do estudo e que contempla todas as questões éticas relevantes.

Curriculum da investigadora: Adequado à investigação.

Data previsível da conclusão do estudo: Março de 2017

Conclusão: Proponho um parecer favorável à realização deste projecto de investigação, que deverá aguardar pela informação em itálico.

Porto, 9 de Dezembro de 2016

*Eu, face ao relatório da investigadora
proponho a aprovação do estudo
telefónica ao CHSJ*

O Relator, Prof. Doutor Manuel Pestana

7. SEGURO

- a. Este estudo/projecto de investigação prevê intervenção clínica que implique a existência de um seguro para os participantes?

SIM ☐ (Se sim, junte, por favor, cópia da Apólice de Seguro respectiva)

NÃO ☒

NÃO APLICÁVEL ☐

8. TERMO DE RESPONSABILIDADE

Eu, Joana Patrícia Miranda Ferreira,
abaixo-assinado, na qualidade de Investigador Principal, declaro por minha honra que as informações prestadas neste questionário são verdadeiras. Mais declaro que, durante o estudo, serão respeitadas as recomendações constantes da Declaração de Helsínquia (com as emendas de Tóquio 1975, Veneza 1983, Hong-Kong 1989, Somerset West 1996 e Edimburgo 2000) e da Organização Mundial da Saúde, no que se refere à experimentação que envolve seres humanos. Aceito, também, a recomendação da CES de que o recrutamento para este estudo se fará junto de doentes que não tenham participado em outro estudo no decurso do actual internamento ou da mesma consulta.

Porto, 24 / Novembro / 2016 09/12/16

A Comissão de Ética para a Saúde tendo aprovado o parecer do Relator, aguarda que o Investigador/Promotor esclareça as questões nele enunciadas para que possa emitir parecer definitivo.

Joana Miranda Ferreira
Prof. Doutor Filipe Almeida Investigador Principal
Presidente da Comissão de Ética

PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE DO CENTRO HOSPITALAR DE S. JOÃO

emitido na reunião plenária da CES

de

13. Janeiro 2017

Centro Hospitalar **São João**.

CONSIDERADOS QUE FORAM COMO SATISFATÓRIOS OS
ESCLARECIMENTOS PRESTADOS PELO(A)
INVESTIGADOR(A), A CES APROVA POR UNANIMIDADE O
PARECER DO RELATOR, PELO QUE NADA TEM A OPOR À
REALIZAÇÃO DESTE PROJETO DE INVESTIGAÇÃO.

13/01/17

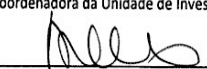
Prof. Doutor Filipe Almeida
Presidente da Comissão de Ética

Unidade de Investigação

Tomei conhecimento. Nada a opor.

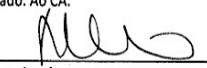
06 de Março de 2017

A Coordenadora da Unidade de Investigação



(Prof.ª Doutora Ana Azevedo)

Aprovado. Ao CA.



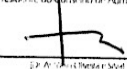
(Prof.ª Doutora Ana Azevedo)

DIRECÇÃO CLÍNICA
9/3/2017 343-16





AUTORIZADO

16 MAR 2017

CONSELHO DE ADMINISTRAÇÃO (C.A.) DE S. JOÃO - EPE
Presidente do Conselho de Administração



Dr.ª Ana Paula Mendes e Silva

| | | | |
|---|---|---|--|
| Diretor Clínico | Enfermeira Chefe | Vogal Executivo | Vogal Técnico |
|  |  |  |  |
| Prof. Dr. Joaquim Rangel | Prof.ª Fernanda Coimbra | Dr. Luís Paulo Gomes | Dr.ª Mariana Matos |

Exmo. Senhor

**Presidente do Conselho de Administração do
Centro Hospitalar de S. João – EPE**

• Centro Hospitalar S. João •
Ao CA
com parecer

Assunto: Pedido de autorização para realização de estudo/projecto de investigação

Nome do Investigador Principal: Joana Patrícia Miranda Ferreira

Título do projecto de investigação:

“Avaliação do fluido crevicular gengival como método de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar: anorexia nervosa e bulimia nervosa – Validação clínica da técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier.”

Pretendendo realizar no(s) Serviço(s) de Psiquiatria
do Centro Hospitalar de S. João – EPE o estudo/projecto de investigação em epígrafe, solicito a V. Exa., na qualidade de Investigador/Promotor, autorização para a sua efectivação.

Para o efeito, anexa toda a documentação referida no dossier da Comissão de Ética do Centro Hospitalar de S. João respeitante a estudos/projectos de investigação, à qual endereçou pedido de apreciação e parecer.

Com os melhores cumprimentos.

Porto, 24 / Novembro / 2016

O INVESTIGADOR/PROMOTOR

Joana Miranda Ferreira

**Anexo II – Autorização do Diretor do Serviço de Psiquiatria e Saúde Mental do
Centro Hospitalar São João, Porto**



DECLARAÇÃO

Para os devidos efeitos, declaro que autorizo a colaboração deste serviço no projecto de investigação sobre “ Avaliação do fluido crevicular gengival como método de diagnóstico de Perturbação do Comportamento Alimentar : anorexia nervosa e bulimia nervosa – validação clínica de técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier”, sendo Investigadora Principal a Dra. Joana Patrícia Miranda Ferreira no âmbito da Dissertação de Mestrado pela Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto.

Porto, 22 de Novembro de 2016

O Director da Clínica de Psiquiatria e Saúde Mental

Dr. António Roma Torres



Anexo III – Explicação do estudo

EXPLICAÇÃO DO ESTUDO

(Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de S. João – EPE; Modelo CES 04)

“Avaliação do fluido crevicular gengival como método de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar: anorexia nervosa e bulimia nervosa – Validação clínica da técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier”

Contextualização teórica:

As perturbações do comportamento alimentar (PCA), nomeadamente a anorexia nervosa (AN) e a bulimia nervosa (BN), são doenças psiquiátricas caracterizadas pela alteração persistente da conduta alimentar. Em 2006, um estudo epidemiológico indicou que a AN afetava 0,39% das mulheres jovens portuguesas, enquanto que a BN atingia aproximadamente 0,30%.

No decorrer das psicopatologias mencionadas, a composição do fluido crevicular gengival (FCG; substância alojada na interface dente-gengiva) altera-se, apresentando diferenças comparativamente com o FCG proveniente de um paciente sem AN e BN. Assim, a identificação de tais divergências, recorrendo a uma técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier (FTIR), pode contribuir para o diagnóstico das perturbações alimentares citadas. A espectrometria de FTIR é um método laboratorial, preciso e não invasivo, usado para identificar a constituição de uma substância. Além disso, exige a recolha de pequenos volumes de amostras.

Objetivos da investigação:

Convidamo-la a participar na presente investigação intitulada: “Avaliação do fluido crevicular gengival como método de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar: anorexia nervosa e bulimia nervosa – Validação clínica da técnica espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier” como voluntária e sem compensação monetária. Este projeto surgiu no âmbito da Unidade Curricular de “Monografia de Investigação/ Relatório de Atividade Clínica” do 5º ano do Mestrado Integrado em Medicina Dentária da Faculdade de

Medicina Dentária da Universidade do Porto (FMDUP) e o seu objetivo principal reside em identificar eventuais divergências ao nível da constituição do FCG de doentes com distúrbios alimentares quando comparado com indivíduos saudáveis, através de uma técnica laboratorial não invasiva e simples: a espectrometria de FTIR.

Metodologia:

O estudo decorrerá nas instalações do Serviço de Psiquiatria e Saúde Mental do Centro Hospitalar do São João (CHSJ), Porto, sendo supervisionado e acompanhado pelo(a) médico(a) psiquiatra responsável. As consultas destinadas a esta investigação decorrem nos dias e horário da Consulta do Comportamento Alimentar (CHSJ-CCA), durante os meses de fevereiro a abril de 2017.

Os indivíduos selecionados para integrarem a amostra de estudo serão distribuídos em dois grupos principais: o grupo de estudo que inclui doentes com AN ou BN (grupo DA) em confronto com um grupo controlo que integra voluntários saudáveis (grupo CT). O grupo de controlo é constituído pelos participantes sem história clínica de perturbações alimentares, verificado através do preenchimento do questionário *Eating Disorder Examination Questionnaire (EDE-Q)*.

O protocolo de investigação incluirá:

- 1) anamnese clínica que visa o despiste de variáveis de confusão;
- 2) exame clínico intraoral e extraoral;
- 3) recolha de amostras de FCG através de um procedimento não invasivo (conforme a figura 8) para a realização de uma análise de espectrometria de FTIR.



Figura 1 – Inserção da fita coletora (papel absorvente) no sulco gengival.

Benefícios esperados para a participante:

- Reforço e/ ou correção de hábitos de higiene oral;
- Instrução para a prevenção de complicações da cavidade oral que advêm de síndromes nervosas alimentares;
- Identificação de eventuais patologias orais;
- Alertar quanto à possível necessidade de tratamentos médico-dentários;
- Educação para a monitorização de complicações orais pré-existentes;
- Fortalecimento da relação médico dentista/ doente;

- Rastreio e diagnóstico de AN e BN utilizando a espectrometria de FTIR do FCG.

Possíveis desconfortos para a participante:

- Introdução de uma fita coletora (papel de filtro) no sulco gengival;
- Jejum de sólidos, de pelo menos 2h antes da aquisição das amostras.

Caráter voluntário da investigação:

A sua participação é voluntária, mediante a assinatura de um consentimento informado de acordo com as recomendações da Declaração de Helsínquia, sendo que a qualquer momento detém a liberdade de renuncia-la. Importa referir que a sua desistência não acarreta nenhum prejuízo na assistência que é prestada. Dispõe de tempo disponível para refletir sobre o pedido de participação.

Confidencialidade:

Os registos obtidos durante o presente estudo são confidenciais e serão mantidos em anonimato.

Aprovação pela Comissão de Ética:

O projeto de investigação mencionado foi aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar do São João, EPE.

Data: __ / __ / ____

☐ Compreendi a informação disponibilizada, coloquei questões sendo as minhas dúvidas esclarecidas relativamente ao projeto de investigação que aceito participar.

Nome completo da paciente:

Assinatura da paciente:

A investigadora principal:

(Joana Ferreira; joanapmirandaf@gmail.com; 910136801)

O orientador:

(Professor Doutor Pedro Gomes; pgomes@fmd.up.pt)

A coorientadora:

(Professora Doutora Isabel Brandão; isabelmbrandão@gmail.com)

Anexo IV – Declaração de Consentimento Informado, Esclarecido e Livre

CONSENTIMENTO INFORMADO, ESCLARECIDO E LIVRE



SÃO JOÃO

PARA INVESTIGAÇÃO CLÍNICA

Considerando a "Declaração de Helsínquia" da Associação Médica Mundial (Helsínquia 1964; Tóquio 1975; Veneza 1983; Hong Kong 1989; Somerset West 1996; Edimburgo 2000; Seoul 2008; Fortaleza 2013)

Designação do Estudo (em português)

Confirmando que expliquei ao participante/representante legal, de forma adequada e compreensível, a investigação referida, os benefícios, os riscos e possíveis complicações associadas à sua realização.

Informação escrita em anexo: ☐ Não ☐ Sim (Nº de páginas _____)

O Investigador responsável

Nome: _____
legível assinatura

Identificação do participante

Nome: _____
BI/ CC nº: _____

Participante/ Representante legal

- Compreendi a explicação que me foi facultada acerca do estudo que se tenciona realizar: os objetivos, os métodos, os benefícios previstos, os riscos potenciais e o eventual desconforto.
- Solicitei todas as informações de que necessitei, sabendo que o esclarecimento é fundamental para uma boa decisão.
- Fui informado da possibilidade de livremente recusar ou abandonar a todo o tempo a participação no estudo, sem que isso possa ter como efeito qualquer prejuízo na assistência que é prestada.
- Declaro não ter sido incluído em nenhum outro projeto de investigação nos últimos três meses.

Concordo com a participação neste estudo, de acordo com os esclarecimentos que me foram prestados, como consta neste documento, do qual me foi entregue uma cópia.

Data: ____ / ____ / ____
assinatura

Nome (Pais/Representante legal): _____
BI/ CC nº: _____ Grau de parentesco: _____

Data: ____ / ____ / ____
assinatura

Anexo V – *Eating Disorder Examination Questionnaire (EDE-Q)*

“Avaliação do fluido crevicular gengival como método de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar: anorexia nervosa e bulimia nervosa – Validação clínica da técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier”

Nº de registo: ____ Data: ____/____/____

Eating Disorder Examination Questionnaire (EDE-Q)

As seguintes questões são relativas às últimas 4 semanas (28 dias). Por favor responda a todas as questões, selecionando apenas uma opção em cada.

Questões 1 a 12 – Assinale o número que melhor traduz o seu comportamento nos últimos 28 dias.

| Em quantos dos últimos 28 dias... | 0 dias | 1–5 dias | 6–12 dias | 13–15 dias | 16–22 dias | 23–27 dias | 28 dias |
|---|-----------|-------------|--------------|---------------|---------------|---------------|------------|
| 1. <u>Tentou</u> restringir refletidamente a quantidade de comida ingerida para influenciar o seu peso ou forma corporal (quer tenha sido ou não bem sucedida)? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 2. <u>Ficou</u> longos períodos de tempo (oito ou mais horas acordada) sem comer nada, apenas para influenciar o seu peso ou forma corporal? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 3. <u>Tentou</u> eliminar da sua dieta alimentos que gosta com o objetivo de influenciar o seu peso ou forma corporal (quer tenha sido ou não bem sucedida)? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

| | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|---|
| 4. <u>Experimentou</u> obedecer a regras alimentares bem definidas para influenciar o seu peso ou forma corporal (quer tenha ou não sido bem sucedida)? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 5. Alguma vez desejou que o seu estômago estivesse <u>vazio</u> com o propósito de influenciar o seu peso ou silhueta? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 6. Alguma vez desejou que a sua barriga fosse <u>totalmente lisa</u> ? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 7. Pensou em <u>comida</u> , em <u>comer</u> ou em <u>calorias</u> o que dificultou muito a sua concentração noutras atividades de interesse (por exemplo, durante o trabalho, enquanto lia um livro, durante uma conversa)? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 8. Pensou sobre o seu <u>peso ou forma corporal</u> o que dificultou muito a sua concentração noutras atividades de interesse (por exemplo, durante o trabalho, enquanto lia um livro, durante uma conversa)? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 9. Teve medo bem definido de perder o controlo sobre as suas condutas alimentares? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 10. Teve medo bem definido de aumentar o peso corporal? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 11. Sentiu-se gorda? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 12. Teve uma forte vontade de perder peso? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

Questões 13 a 18 – Indique o número que mais lhe parece adequado.

Nos últimos 28 dias...

| |
|---|
| 13. Quantas <u>vezes</u> comeu o que outras pessoas considerariam uma quantidade excessiva de comida (dadas as circunstâncias)? _____ |
| 14. Em quantas dessas vezes teve a sensação de perda de controlo sobre o seu comportamento alimentar (no momento em que estava a comer)? _____ |
| 15. Em quantos DIAS ocorreram esses episódios de excesso alimentar (episódios em que consumiu uma quantidade exagerada de alimentos e sentiu perda de controlo sobre o comportamento alimentar)? _____ |
| 16. Quantas <u>vezes</u> induziu o vômito com o objetivo de controlar o peso e forma corporal? _____ |
| 17. Quantas <u>vezes</u> tomou laxantes para controlar o peso e forma corporal? _____ |
| 18. Quantas <u>vezes</u> praticou exercício de forma compulsiva com o objetivo de controlar o peso e forma corporal? _____ |

Questões 19 a 21 – Selecione o número que melhor traduz o seu comportamento nos últimos 28 dias.

O termo *binge eating* significa ingerir alimentos em quantidade que outros indivíduos considerariam anormalmente exagerada, dadas as circunstâncias, acompanhada da sensação de perda de controlo sobre a sua conduta alimentar.

| Nos últimos 28 dias... | 0 dias | 1–5 dias | 6–12 dias | 13–15 dias | 16–22 dias | 23–27 dias | 28 dias |
|---|--------|----------|-----------------|------------|----------------|------------|---------|
| 19. Quantos dias se alimentou (furtivamente) em segredo?... Excluindo os episódios de <i>binge eating</i> . | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 20. Considerando o número total de vezes que comeu, em que dimensão se sentiu | Nunca | Poucas | Menos de metade | Metade | Mais de metade | A maioria | Sempre |

| | | | | | | | |
|---|---------------------------------|---|---|---|---|---|---|
| culpada (sensação de ter feito algo errado) devido aos efeitos sobre o seu peso ou aparência corporal?... Excluindo os episódios de <i>binge eating</i> . | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 21. Qual é o seu grau de preocupação com indivíduos que a observarem comer?... Excluindo os episódios de <i>binge eating</i> . | Nenhum Ligeiro Moderado Elevado | | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

Questões 22 a 28: Por favor, rodeie o número que a caracteriza. Recorde que as perguntas são relativas aos últimos 28 dias.

| Em quantos dos últimos 28 dias... | Nenhum Ligeiro Moderado Elevado | | | | | | |
|---|---------------------------------|---|---|---|---|---|---|
| 22. Considera que o seu <u>peso</u> influenciou a sua opinião sobre a pessoa que é? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 23. Considera que a <u>fisionomia do seu corpo</u> influenciou a sua opinião sobre a pessoa que é? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 24. Até que ponto ficaria aborrecida se alguém lhe pedisse para se pesar uma vez (nem mais, nem menos) por semana nas próximas 4 semanas? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 25. Está descontente com o seu <u>peso</u> ? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 26. Está insatisfeita com a sua <u>fisionomia corporal</u> ? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 27. Até que ponto se sentia desconfortável ao observar o seu corpo? (por exemplo ver a sua | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

| | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|---|
| silhueta no espelho, no reflexo da janela de uma loja, enquanto se despe ou toma banho) | | | | | | | |
| 28. Até que ponto se sentia desconfortável se outro indivíduo observasse o seu corpo? (por exemplo, em vestiários públicos, na piscina ou quando usa roupas apertadas) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

29. Qual é o seu peso? _____

30. Qual é a sua altura? _____

31. Se é do sexo feminino: Nos últimos três/ quatro meses verificou alguma alteração no seu período menstrual, nomeadamente ausência de menstruação?

☐ Sim. Quantas vezes? _____

☐ Não.

32. Toma a pílula? _____

Obrigada!

Anexo VI – Anamnese Clínica da Participante

“Avaliação do fluido crevicular gengival como método de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar: anorexia nervosa e bulimia nervosa – Validação clínica da técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier”

ANAMNESE CLÍNICA

O seguinte inquérito é constituído por 10 perguntas. Por favor, assinale com uma cruz (X) a opção que melhor descreve a sua condição clínica. Importa salientar que a veracidade da informação que irá fornecer é fundamental para o sucesso deste estudo.

Dados da participante:

Idade:

Raça:

Nível de escolaridade:

Profissão/ocupação:

Peso (Kg):

Altura (m):

IMC (Kg/m²):

Número de registo:

Data:

1. Apresenta alguma patologia sistémica?

- ☐ Nenhuma
- ☐ Arritmia
- ☐ Cardiomiopatia
- ☐ Diarreias sanguinolentas
- ☐ Refluxo-gástrico
- ☐ Ruptura gástrica
- ☐ Pancreatite
- ☐ Diabetes mellitus
- ☐ Hipotireoidismo
- ☐ Hipertireoidismo
- ☐ Osteoporose
- ☐ Dores nos ossos
- ☐ Miopatia
- ☐ Depressão
- ☐ Ansiedade
- ☐ Doença obsessiva compulsiva
- ☐ Alterações de personalidade
- ☐ Alcoolismo
- ☐ Anorexia Nervosa
- ☐ Bulimia Nervosa
- ☐ Outras. Indique qual: _____

2. Faz medicação habitualmente?

- ☐ Sim. Indique o nome e o esquema posológico do(s) fármaco(s).

- ☐ Não

Relativamente à questão número 1 se não assinalou a opção anorexia nervosa ou bulimia nervosa prossiga para a questão 5.

3. Qual o tipo de distúrbio alimentar que apresenta?

- ☐ Anorexia nervosa tipo restritivo
- ☐ Anorexia nervosa tipo purgativo
- ☐ Bulimia nervosa tipo exercício físico prolongado/ jejum prolongado
- ☐ Bulimia nervosa tipo purgativo

3.1. Em que idade começou a perturbação alimentar? _____

3.2. Em que idade lhe diagnosticaram o distúrbio alimentar? _____

4. Em relação à história passada/ presente de hábitos purgativos:

- ☐ Não
- ☐ Indução de vômito
- ☐ Uso de laxantes e/ ou diuréticos
- ☐ Indução de vômito e uso de laxantes e/ ou diuréticos

Caso não apresente história passada/ presente de hábitos purgativos avance até à questão 5.

4.1. Se apresenta história de hábitos purgativo, indique:

4.1.1. Em que idade começou este hábito: _____

4.1.2. Quantas vezes pratica ou praticava este hábito por dia: _____

4.1.3. Até que idade permaneceu este hábito: _____

5. Relativamente, aos cuidados com a higiene oral:

5.1. Qual o número de escovagens que executa por dia?

- ☐ 0
- ☐ 1
- ☐ 2
- ☐ 3
- ☐ > 3

5.2. Qual a duração média da escovagem?

- ☐ 0 minutos
- ☐ < 1 minuto
- ☐ 1-2 minutos
- ☐ 2-3 minutos
- ☐ > 3 minutos

5.3. Recorre a algum método adicional de higiene oral?

- ☐ Nenhum
- ☐ Escovilhão
- ☐ Fio/fita dentária
- ☐ Colutório
- ☐ Outros. Qual/ quais? _____

Caso não apresente história de indução de vômito avance para a questão 6.

5.4. Que cuidados de higiene oral efetua após o vômito?

- ☐ Nenhum
- ☐ Escova os dentes de imediato
- ☐ Bochecha com soluções neutralizadoras de ácidos
- ☐ Bochecha com água
- ☐ Outros. Qual/ quais? _____

6. Encontra-se em tratamento ortodôntico?

- ☐ Sim
- ☐ Não

7. Fuma?

- ☐ Nunca fumou.
- ☐ Ex-fumadora. Há quanto tempo? _____
- ☐ Sim. Indique a quantidade de cigarros/ dia: _____

8. Ingere com frequência bebidas alcoólicas?

☐ Sim. Indique quantas vezes/ dia: _____

☐ Não

9. Consome drogas?

☐ Sim. Indique com que frequência: _____

☐ Não.

10. Registos relevantes para a aquisição da amostra:

10.1. Fumou nas últimas duas horas?

☐ Sim

☐ Não

10.2. Ingeriu alimentos e/ ou bebidas (exceto água) nas últimas duas horas?

☐ Sim

☐ Não

Anexo VII – Registo do Exame Clínico da Participante

“Avaliação do fluido crevicular gengival como método de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar: anorexia nervosa e bulimia nervosa – Validação clínica da técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier”

Nº de registo: ____ Data: ____/____/____

EXAME CLÍNICO

Exame extraoral

Alterações observadas a nível da face:

- ☐ Queilite angular
- ☐ Queilite actínica
- ☐ Queilite esfoliativa
- ☐ Sialose. Em caso afirmativo, quais as glândulas afetadas? _____
- ☐ Outras. Quais? _____

Exame intraoral

Avaliação periodontal:

Gengiva:

- ☐ Normal
- ☐ Gengivite
- ☐ Patologia. Qual? _____

- ☐ Sim
- ☐ Não

- ☐ Sim
- ☐ Não

| | |
|-----------------------|--|
| Mesio-vestibular (MV) | |
| Disto-vestibular (DV) | |
| Mesio-palatino (MP) | |
| Disto-palatino (DP) | |

| | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | | 55 | 54 | 53 | 52 | 51 |
| 18 | 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| 48 | 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 |
| | | | 85 | 84 | 83 | 82 | 81 |

| | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 61 | 62 | 63 | 64 | 65 | | | |
| 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 |
| 71 | 72 | 73 | 74 | 75 | | | |

| Condição dentária: | Permanente | Decíduo |
|----------------------|------------|---------|
| São | 0 | A |
| Cariado | 1 | B |
| Restaurado com cárie | 2 | C |
| Restaurado sem cárie | 3 | D |

| | | |
|-------------------------------------|---|---|
| Perdido por cárie | 4 | E |
| Perdido por outro motivo | 5 | - |
| Selante de fissuras | 6 | F |
| Prótese dentária fixa | 7 | G |
| Não erupcionado ou raiz não exposta | 8 | - |
| Não registado | 9 | - |
| Traumatismo | T | T |

Erosão dentária:

- ☐ Sim
- ☐ Não

Sensibilidade dentária:

- ☐ Sim
- ☐ Não

Alterações do fluxo salivar:

Sensação de boca seca:

- ☐ Sim
- ☐ Não

Dificuldade em realizar as funções da cavidade oral (como deglutição, fala e mastigação)?

- ☐ Sim
- ☐ Não

Disgeusia (alteração do paladar):

- ☐ Sim
- ☐ Não

Alterações da mucosa oral:

- ☐ Candidíase
- ☐ Dor
- ☐ Sensação de ardência
- ☐ Lesões palato mole
- ☐ Outras. Quais? _____

Anexo VIII – Declaração de Autoria

DECLARAÇÃO DE AUTORIA

Monografia de Investigação/ Relatório de Atividade Clínica

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia de Investigação/ Relatório de Atividade Clínica, integrado no MIMD, da FMDUP, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente citadas.

Porto, 24 de maio de 2017

A investigadora

Joana Ferreira

(Joana Ferreira)

Anexo IX – Parecer do Orientador

PARECER DO ORIENTADOR

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pelo estudante Joana Patrícia Miranda Ferreira, com o título: “Avaliação do fluido crevicular gengival como método de diagnóstico de perturbações do comportamento alimentar: anorexia nervosa e bulimia nervosa – Validação clínica da técnica de espectrometria de infravermelhos pela transformada de fourier” está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 24 de maio de 2017

O orientador

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Pedro de Sousa Gomes', is written over a solid horizontal line.

Pedro de Sousa Gomes